Aus dem Physiologisch-chemischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Dr. Ernst Schütte

Einfluss des Aldosterons auf die extrarenale Elektrolytverteilung bei der normalen und adrenalektomierten Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gertraud Bonatz geb. Ziegler
aus Dobrilugk N.-L.

1962

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Dr. Ernst S c h ü t t e

Einfluß des Aldosterons auf die extrarenale Elektrolytverteilung bei der normalen und adrenalektomierten Ratte.

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gertraud Bonatz geb. Ziegler
aus Dobrilugk N.-L.

Dekan: Professor Dr. med., Dr. med. dent. Ewald Harndt

Referent: Professor Dr. med., Dr. rer. nat. Ernst Schütte

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. Gerhard Senft

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 26. Juli 1962

Inhaltsübersicht

	Seite
A. THEORETISCHER TEIL	
I. Einleitung	5
II. Problemstellung und Versuchsanordnung	6
III. Ergebnisse	9
a) Einfluß von Aldosteron auf die extrarenale Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der normalen männlichen Ratte	9
b) Einfluß der Adrenalektomie auf die extrarenale Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der männlichen Ratte	9
c) Einfluß von Aldosteron auf die extrarenale Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der adrenalektomierten männlichen Ratte	10
IV. Diskussion	11
V. Zusammenfassung	15
B. EXPERIMENTELLER TEIL	
I. Methoden	17
1. Bestimmung des Gesamtwassergehaltes der Organe	17
2. Bestimmung des Natrium- und Kaliumgehaltes	17
3. Bestimmung des Chloridgehaltes	17
4. Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit der Organe	18
II. Ergebnisse in Tabellen	19
Tabelle 1. Analysen der gefriergetrockneten Organe	20
Tabelle 2. Meßwerte im Serum	21
Tabelle 3. Berechnung des intrazellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes	21
Tabelle 4. Berechnung der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und der Konzentrationsgradienten	22
C. LITERATUR	23

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546826_0079

Einfluß des Aldosterons auf die extrarenale Elektrolytverteilung bei der normalen und adrenalektomierten Ratte.

A. THEORETISCHER TEIL

I. Einleitung.

Simpson und Mitarbeitern gelang 1953 die "Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel" (1). Die "Elektrocortin" benannte Substanz erwies sich als identisch mit dem "sodium retaining factor" (2), der von Deming und Luetscher 1950 im Harn Nephrosekranker gefunden wurde (3).

1954 klärten Simpson et al. (4) die chemische Struktur des Elektrocortins auf. Als 11-Oxy-18-aldo-corticosteron erhielt es den Namen Aldosteron und machte gleichzeitig die bisherige Einteilung der Glucocorticoide als C_{11}-oxy-Steroide und der Mineralocorticoide als C_{11}-desoxysteroide hinfällig (5).

In Lösung liegt ein Gleichgewicht zwischen Halbazetat- und Aldehydform des Aldosterons vor, wobei die Halbazetalform überwiegt.

1955 wurde es von Wettstein und Mitarbeitern synthetisiert (6, 7) und steht heute als d, l-Aldosteronmonoacetat zur Verfügung (8). Die biologische Wirksamkeit des synthetischen Razemats beträgt 40-50% der des natürlichen d-Aldosterons (6, 9,). Im tierischen Organismus wird Aldosteron in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde gebildet (10) und weitgehend unabhängig vom ACTH sezerniert (11).

Bei der Steuerung der Aldosteronsektretion spielen Änderungen des extrazellulären Flüssigkeitsraumes (12), des Blutvolumens (13, 14, 15) und der extrazellulären Natriumkonzentration (16, 17, 18), Einflüsse des Renins (19), zentralnervöse Regulationen (20, 10) und vermutlich ein "aldosterone stimulating hormone" (21) eine Rolle.

Compound SC 52-33, ein Spirolacton (22, 23, 24), und Progesteron (25) wurden als Aldosteronantagonisten auf der Basis kompetitiver Hemmung bekannt.

Bilanzuntersuchungen ergaben, daß Aldosteron die Natriumrückresorption am distalen Tubulus fördert (26) und dabei Kalium eliminiert. Einige Autoren schließen aus ihren Untersuchungen, daß eine enge negative Korrelation zwischen Aldosteron- und Natriumausscheidung im Harn besteht (27, 28). Im Vergleich zu Desoxycorticosteron erzeugt Aldosteron im Tierversuch eine 25-fach stärkere Natriumrückresorption und eine fünffach höhere Kaliumelimination (29). Bei Addisonkranken verursacht es in den zur Substitution notwendigen Dosen im Gegensatz zu DOCA weder erhöhten Blutdruck noch pathologische Wasserretention (30, 31, 32, 33). Es unterscheidet sich also nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ von diesem.

Die Rolle des Aldosterons bei primärem (34) und secundärem (28, 35-39) Aldosteronismus sowie bei der Ödempathogenese (40) wird zum Teil aus seiner renalen Wirkung verständlich. Inwieweit es daneben einen extrarenalen Einfluß auf die Elektrolytverteilung zwischen Zelle und Interstitium ausübt, ist bisher nur unzureichend geklärt.

A_{II}. Problemstellung und Versuchsanordnung

In der vorliegenden Arbeit werden die Veränderungen der Elektrolytkonzentrationen unter Aldosteron in Muskel und Leber normaler und adrenalektomierter Ratten untersucht. Dabei werden mit Hilfe der Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit (EZF) aus den Gesamtionenkonzentrationen die extra- und intrazellulären Anteile errechnet. Diese Methode gewährt einen direkten Einblick in die Verteilungsvorgänge und damit in die extrarenale Wirkungsweise des Aldosterons.

Es wurden je sechs weiße männliche Ratten im Gewicht von 250-300 g in vier Versuchsserien verwendet.

Serie 1: Normaltiere als Kontrolltiere.

Serie 2: Normaltiere, 14 Tage lang mit Aldosteron behandelt. Es wurden täglich 1.5 y d,l-Aldosteronmonoacetat in wäßriger Lösung subcutan injiziert.

Serie 3: Adrenalektomierte Tiere als Vergleichstiere. Die beiderseitige Adrenalektomie wurde transabdominell in Äthernarkose durchgeführt. Gleich nach der Operation erhielten die Tiere Glucoselösung zum Trinken, sonst Wasser in beliebiger Menge.

Serie 4: Adrenalektomierte Tiere, 14 Tage lang mit Aldosteron wie oben behandelt.

Die Aldosterondosierung richtete sich nach Angaben von Labhardt (41) und Llaurado (42).

Alle Tiere erhielten normale Stallkost und wurden nach je vierzehntägiger Versuchsdauer durch Genickschlag getötet. Es wurde sofort Blut aus dem Herzen für Serumuntersuchungen entnommen, anschließend Leber und Schenklemuskulatur präpariert und gefriergetrocknet.

Im Serum wurden Natrium und Kalium flammenphotometrisch bestimmt, Chlorid potentiometrisch titriert.

Der Wassergehalt von Leber und Muskel wurde durch die Gefriertrocknung, die EZF als Saccharoseverteilungsraum ermittelt. Dazu injizierten wir den Tieren 15' vor dem Tode 1.5 ml 14%ige Saccharoselösung intravenös. Vorversuche hatten ergeben, daß die Verteilung der Saccharose im Gewebe nach fünfzehn Minuten beendet ist und die EZF-Werte für ca. 15' konstant bleiben. Die Saccharose wurde im Serum und in Leber und Muskel photometrisch als roter Triarylmethanfarbstoff ermittelt.

Kalium und Natrium im Gewebe wurden nach Veraschung im Bombenrohr flammenphotometrisch, Chlorid und Carius und Volhard bestimmt. Alle Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt.

Aus den Serumelektrolytkonzentrationen und dem extrazellulären Raum von Leber und Muskel wurden die extrazellulären Elektrolyt- und Was-

seranteile errechnet und vom Gesamtelektrolyt- bzw. Wassergehalt abgezogen. Der resultierende intrazelluläre Anteil (Tabelle 3) vermittelt eine Übersicht über den Elektrolyt- und Wassergehalt der Leber- und Muskelzellen und über das Ausmaß der absoluten Veränderungen dieser Größen unter dem Einfluß des Aldosterons.

Die Berechnung der Elektrolytkonzentrationen (Tabelle 4) gibt Aufschluß über das Verhältnis Elektrolyt- : Wasserverschiebungen. Dabei können Änderungen der Konzentration eines Ions durch osmotische Wasserbewegungen, durch "aktiven Transport" des Ions oder durch Änderungen seiner extrazellulären Konzentration verursacht sein.

Unter aktivem Transport verstehen wir eine stoffwechselabhängige Bewegung von Ionen gegen ein Konzentrationsgefälle. Diese Definition läßt eine Entscheidung darüber, welches Ion primär transportiert wird, offen.

Auf die Berechnung des intrazellulären Natrium-Kalium-Quotienten, der unabhängig von osmotischen Wasserbewegungen eine Aussage über den aktiven Natrium-Kalium-Transport ermöglicht, verzichteten wir, da die Berechnung des Gradienten zwischen extra- und intrazellulärer Konzentration des einzelnen Ions unter Berücksichtigung des Donnanfaktors seine Bewegungen besser veranschaulicht (Tabelle 4).

Eine Zunahme des Konzentrationsgradienten für Natrium und Kalium bedeutet Aktivierung des Transportes, eine Abnahme Inaktivierung.

Die Berechnung der Signifikanz D erfolgte nach Fisher (43) :

$$D = \frac{M_1 - M_2}{\pm\sqrt{(a_1)^2 + (a_2)^2}}$$

M_1 und M_2 = Mittelwerte,

a_1 und a_2 = absolute mittlere Fehler der Mittelwerte.

Unterschiede zwischen zwei Meßwerten wurden in den Tabellen unterstrichen, wenn D größer als 2.5 war.

Bei der Berechnung wurden die fortgeleiteten Fehler berücksichtigt, die sich aus der Wurzel der Summe der Quadrate der relativen mittleren Fehler der beteiligten Einzelbestimmungen ergaben.

A_{III}. Ergebnisse. (Tabellen 1, 2 und 3)

a) Einfluß von Aldosteron auf die extrarenale Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der normalen männlichen Ratte.

Serum

Unter Aldosteronbehandlung zeigen der Serum-Na= und -Cl=Gehalt keine Veränderung, Serum-K dagegen fällt von 7.1 auf 6.1 mmol/l ab.

Leber

Gesamtwassergehalt und EZF werden nicht beeinfluß. Das intrazelluläre Natrium fällt von 0.27 auf 0.17, das intrazelluläre Kalium von 8.84 auf 7.93 mmol/100 g Frischgewicht (F.G.) ab. Diese Werte sind nicht signifikant verschieden.

Muskel

Der Gesamtwassergehalt wird nicht verändert, die EZF steigt unter Aldosteron von 9.4% auf 11.1%.

Der intrazelluläre (i.z.) Natriumgehalt nimmt von 1.19 auf 0.94, das i.z. Kalium von 9.78 auf 8.63 mmol/100 F.G. ab. Gleichzeitig fällt der intrazelluläre Chloridgehalt des Muskels von 0.41 auf 0.23 mmol/100 g F.G. bei gleichbleibendem Gesamtchloridgehalt. Auch diese Werte liegen an der Grenze der Signifikanz.

b) Einfluß der Adrenalektomie auf die extrarenale Natrium-Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der männlichen Ratte.

Serum

Übereinstimmend mit den Ergebnissen von Dulce, Günther und Schütte (44) und Krück (45) ergaben sich als Folge der Adrenalektomie eine Zunahme des Serum-Kalium und eine Abnahme des Serum-Natrium bei gleichbleibenden Serumchloridwerten.

Leber

In der Leber nimmt der Gesamtwassergehalt von 68.5 auf 72.4% F. G. signifikant zu, die EZF bleibt unverändert. Es zeigen sich eine starke Anreicherung von Natrium in der Zelle von 0.27 auf 1.67 mmol/100 g F. G. . Das i. z. Chlorid steigt von 0.77 auf 1.41 mmol/100 g F. G., der Wassergehalt der Leberzelle nimmt von 49.3 auf 56.5 g/100 g F. G. zu. Diese Ergebnisse stimmen mit den von Dulce, Günther und Schütte (44) mit Hilfe des Inulinraumes errechneten Werten überein.

Muskel

Auch im Muskel steigt nach der Adrenalektomie der Gesamtwassergehalt zugunsten des Zellwassers an. Die EZF wird nicht verändert. Der i. z. Natriumgehalt bleibt gleich, der i. z. Kaliumgehalt nimmt wenig ab. Der Chloridgehalt der Muskelzelle steigt von 0.41 auf 0.58 mmol/100 g F. G. an.

c) Einfluß von Aldosteron auf die extrarenale Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wasserverteilung bei der adrenalektomierten männlichen Ratte.

Serum

Unter dem Einfluß von Aldosteron werden die adrenalektomiebedingten Effekte aufgehoben:

Der Serum-Na-Gehalt steigt von 136.3 auf 151.7 mmol/l, der hohe Serum-K-Gehalt von 10.4 mmol/l wird auf 8.9 mmol/l erniedrigt. Die durch die Adrenalektomie nicht veränderten Serum-Cl-Werte bleiben unbeeinflußt.

Leber

Der durch die Adrenalektomie erhöhte Gesamtwassergehalt nimmt auf Kosten der i. z. Wasserkonzentration etwas ab, gleichzeitig steigt die EZF von 15.9 auf 17.0 % F. G. an. Der i. z. Natriumgehalt fällt von 1.67 auf 0.97 mmol/100 g F. G., der Kaliumgehalt der Leberzelle nimmt von 8.29 auf 8.45 mmol/100 g F. G. zu.

Muskel

In der Muskulatur nimmt die EZF von 9.9 auf 11.9 % F.G. zu bei gleichzeitiger Abnahme des i.z. Wassergehaltes von 65.4 auf 61.3 g/100 F.G.

Auch hier wird die durch die Adrenalektomie bedingte Anreicherung von Natrium in der Zelle rückgängig gemacht. Das i.z. Natrium fällt von 1.08 auf 0.81 mmol/100 g F.G. Die Kaliumkonzentration in der Zelle wird nicht verändert, der Chloridgehalt der Muskelzelle nimmt von 0.58 auf 0.34 mmol/100 g F.G. ab.

$A_{IV.}$ Diskussion

Aus Bilanzuntersuchungen ist bekannt, daß Aldosteron in der Lage ist, den Elektrolythaushalt Addisonkranker zu normalisieren (30-33) und adrenalektomiebedingte Mineralverschiebungen auszugleichen (46).

Es lag der Schluß nahe, daß Aldosteron neben seiner renalen Wirkung einen direkten Einfluß auf die extrarenale Verteilung von Natrium und Kalium ausübt (5).

Untersuchungen am Normaltier ergaben unter physiologischen Aldosterondosen nur geringe Veränderungen:
Kalium-Abfall von 7.1 auf 6.1 mmol/l im Serum bei unverändertem Natrium- und Chloridgehalt, Abnahme des Natrium- und Kaliumgehaltes der Leber- und Muskelzelle an der Grenze der Signifikanz.

Inwieweit dieser Effekt durch Gegenregulationsmechanismen (47) gedrosselt oder gerichtet wurde, wäre zu klären. Deutlicher zeigen unsere Untersuchungen am nebennierenlosen Tier die Wirkungen des Aldosterons. Die durch die Adrenalektomie bedingten Serumveränderungen werden aufgehoben:
Serum-Natrium wird von 136.3 auf 151.7 mmol/l erhöht, Serum-Kalium von 10.4 auf 8.9 mmol/l gesenkt. Die extrazelluläre Flüssigkeit nimmt in der Leber wenig, im Muskel von 9.4 auf 11.1 % F.G. zu. Gleichzeitig zeigt sich eine signifikante Abnahme des hohen, adrenalektomiebedingten

Natriumgehaltes in der Leberzelle von 1.67 auf 0.97 mmol/loo g F.G., in der Muskelzelle von 1.08 auf 0.81 mmol/loo g F.G. .

Der Wassergehalt der Zelle nimmt ab, die Muskelzelle verliert etwas Chlorid. Der infolge der Adrenalektomie aufgetretene Kaliumverlust der Zelle wird nur ungenügend ausgeglichen. Deutlicher als die angeführten Werte drückt der Konzentrationsgradient des jeweiligen Ions Änderungen seiner Verteilung innerhalb und außerhalb der Zelle aus, wobei eine Vergrößerung des Gradienten mit einer Aktivierung des Ionentransportes gleichzusetzen ist (Tabelle 4).

Der Konzentrationsgradient für $Na^{außen/innen}$ steigt bei Aldosteronbehandlung adrenalektomierter Tiere in der Leber von 4.4 auf 8.0, im Muskel von 7.9 auf 10.9, bei Aldosteronbehandlung normaler Tiere in der Leber von 26.8 auf 42.3, im Muskel von 7.8 auf 9.5.

Der Konzentrationsgradient für $K^{innen/außen}$ verändert sich bei Aldosteronbehandlung normaler Tiere in Leber und Muskel wenig, bei Aldosteronbehandlung adrenalektomierter Tiere wird er in der Leber von 14.8 auf 18.5, im Muskel von 14.6 auf 17.5 erhöht.

Der Konzentrationsgradient für $Cl^{außen/innen}$ wird in der Leber unter Aldosteron nicht beeinflußt, im Muskel jeweils erhöht. Es ist nicht bekannt, ob es sich dabei um einen aktiven Transport handelt. Man nimmt eher an, daß Chlorid den Kationenverschiebungen secundär folgt.

Aus den gefundenen Ergebnissen läßt sich folgern, daß Aldosteron den Natriumtransport aktiviert und damit einen direkten Einfluß auf die Verteilung dieses Ions zwischen Interstitium und Zellinnerem hat.

Ob es auch den Kaliumtransport aktiviert, ob Kalium überhaupt hier aktiv bewegt wird oder passiv den Bewegungen des Natrium reziprok folgt, kann aus den Versuchen nicht entschieden werden.

Es ist noch ungeklärt, ob Aldosteron selbst als Carrier für Natrium wirkt (48). Stabile Komplexe zwischen Steroiden und Alkaliionen sind bis-

her unbekannt. Aldosteron als Carrier heranzuziehen, ist deshalb rein hypothetisch.

Wahrscheinlicher ist, daß es eine Änderung spezifischer Membraneigenschaften herbeiführt oder in das Stoffwechselgeschehen der Zelle eingreift und dadurch eine Aktivierung des Natriumtransportes bewirkt.

Unsere Ergebnisse werden unterstrichen durch Untersuchungen von Woodbury (49), der mithilfe des Chloridraumes bei Mäusen unter hohen Aldosterondosen eine Abnahme des zellulären Muskelnatriums fand bei gleichzeitigem Anstieg des Gesamtmuskelnatriums.

Ohne die intrazellulären Wasser- und Elektrolytanteile zu errechnen, fanden Flückiger und Verzár (50) am Diaphragma der Ratte und Sulser und Kunz (51) am durchströmten Herzmuskel von Meerschweinchen in vitro Veränderungen der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Aldosteron, die als Aktivierung des Natrium-Kalium-Transportes zu deuten sind.

In anderem Zusammenhang fanden Friedman et al. (52) bei Ratten einen Anstieg des extrazellulären Natriums und der als Inulinraum berechneten extrazellulären Flüssigkeit nach hohen Aldosterongaben.

Auch am isolierten Erythrocyten wurde der Einfluß des Aldosterons auf den aktiven Transport untersucht.

Dabei fand Wilbrandt (48) in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen eine Reaktivierung des Kalium-Natrium-Transportes an Kälteerythrocyten nach Hemmung durch K-Strophantin. Friedman (53) dagegen erzielte eine Verminderung der Plasma-Natrium-Zuwachsrate bei Erwärmung von Kälteerythrocyten, also eine Hemmung des Transportes. Die eben erwähnten Ergebnisse lassen sich nur mit Vorbehalt auf die normale Körperzelle übertragen (54).

Angaben darüber, daß eine erhöhte Aldosteronaktivität eine Natriumanreicherung in der Zelle zur Folge habe (55, 56), können wir nicht bestä-

tigen. Die Bestimmung des Gesamt-Natriumgehaltes veraschten Gewebes, die solchen Angaben zugrunde liegt, ohne gleichzeitige Ermittlung der extrazellulären Flüssigkeit erlaubt nach unseren Erfahrungen keine Aussage darüber, ob sich das Natrium in der Zelle oder im Interstitium befindet. Der Anstieg der extrazellulären Flüssigkeit unter Aldosteroneinfluß (52) erklärt die Zunahme des Natriumgehaltes eines Gewebes, ohne eine Aufnahme in die Zelle in Anspruch nehmen zu müssen.
Die Untersuchungsergebnisse von Krück (45) lassen sich nur bedingt mit unseren Befunden vergleichen.

Abgesehen davon, daß auch hier die Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit fehlt, um Schlüsse für die zellulär-interstitielle Elektrolytverteilung ziehen zu können, entsprechen seine bei aldosteronbehandelten Normaltieren gefundenen angedeuteten Veränderungen in Serum und Muskel den von uns ermittelten Werten.

Die Ergebnisse seiner Untersuchungen an aldosteronbehandelten adrenalektomierten-nephrektomierten Tieren widersprechen aber unseren Befunden.
Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Tiere bei Krück nach sechsstündiger Versuchsdauer getötet wurden.

Ungeachtet dessen, daß eine gleichzeitige Adrenalektomie und Nephrektomie Veränderungen bewirkt, die die Deutung der Versuchsergebnisse sehr schwierig, wenn nicht unmöglich machen, reichen sechs Stunden nicht aus (57), um klare adrenalektomiebedingte Elektrolytverschiebungen zu erhalten. Dies geht auch bei Krück aus Tabelle 1 deutlich hervor. Die Möglichkeit, einen Aldosteroneffekt unter diesen Bedingungen prüfen zu können, ist damit in Frage gestellt.

Aus unseren Untersuchungen können wir schließen, daß Aldosteron den aktiven Natriumtransport in Leber und Muskel aktiviert. Es wäre vorstellbar, daß es über ein Eingreifen in die energetischen Vorgänge der Zelle die Bewegung der Natriumionen aus der Zelle in die interstitielle Flüssigkeit begünstigt.

Auf die Niere bezogen, bedeutete das ein erhöhtes Abfließen von Natrium und secundär auch von Wasser aus der Tubuluszelle in das Interstitium unter Aldosteronaktivität bei gleichzeitiger Kaliumanreicherung und - exkretion.
Damit würde das Aldosteron auch extrarenal das Entstehen eines Halocortinödems bewirken (40).
Chlorid würde diesen Bewegungen passiv folgen.
Da Kalium entsprechend dem Natriumaustritt nicht in gleichem Maße in die Zelle eindringt, wäre zu klären, welche Kationen eventuell in die Zelle eintreten oder welche Anionen den Natriumbewegungen neben den Chloridionen folgen.

A_V. Zusammenfassung.

An normalen und adrenalektomierten Ratten wurde der Einfluß von Aldosteron auf die extrarenale Verteilung von Natrium, Kalium Chlorid und Wasser untersucht.
Je sechs Tiere erhielten vierzehn Tage lang 1.5 y d, 1-Aldosteronmonoacetat in wäßriger Lösung subcutan injiziert und wurden dann durch Genickschlag getötet. Als Vergleichstiere dienten normale unbehandelte und adrenalektomierte unbehandelte Tiere.

Im Serum und in den gefriergetrockneten Geweben (Leber und Muskel) analysierten wir den Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Wassergehalt.

Zur Berechnung der extrazellulären Elektrolytanteile wurde gleichzeitig eine Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit (EZF) mit Saccharose durchgeführt.

Aus Serumkonzentrationen und Saccharoseraum der Gewebe wurde der extrazelluläre Elektrolyt- und Wasseranteil berechnet und vom Gesamtgehalt abgezogen.

Unter Aldosteronbehandlung fanden wir bei Normaltieren eine geringe, bei adrenalektomierten Tieren eine deutliche Verminderung des Zellnatriumgehaltes bei gleichzeitiger Zunahme der EZF und des intrazellulären Kaliums.

Wir dürfen daraus schließen, daß Aldosteron neben seiner renalen Wirkung den Transport von Natrium zwischen Zelle und Interstitium aktiviert, wobei zu klären ist, in welcher Weise diese Aktivierung zustande kommt.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Methoden

1. Bestimmung des Gesamtwassergehaltes der Organe.
Durch Wägung vor und nach der Gefriertrocknung wurde der Wassergehalt in Leber und Muskel ermittelt.

2. Bestimmung des Natrium- und Kaliumgehaltes.
Je 50 mg der gefriergetrockneten pulverisierten Organe wurden mit 0.5 ml konzentrierter Salpetersäure in Bombenrohren von ca. 30 cm Länge, 1.5 cm lichter Weite und 1.2 mm Wanddicke sechs Stunden bei 200 °C verascht. Natrium und Kalium wurden im klaren, verdünnten Rückstand flammenphotometrisch bestimmt. Beim Serum wurde auf eine vorherige Veraschung verzichtet.

3. Bestimmung des Chloridgehaltes.
Je 100 mg der gefriergetrockneten pulverisierten Organe wurden in Bombenrohren nach Carius unter Zusatz von 1 ml 0.025 n $AgNO_3$ in halogenfreier rauchender HNO_3 sechs Stunden bei 200 °C verascht. Chlorid wurde anschließend nach Volhard titriert, indem das überschüssige $AgNO_3$ mit $^n/_{160}$ KCNS-Lösung gegen 5%ige Eisenalaunlösung als Indikator titriert wurde.

Im Serum wurde Chlorid direkt potentiometrisch (58) gemessen. Je 0.2 ml Serum wurden mit 5 ml 50%iger Essigsäure versetzt und mit $^n/_{200}$ $AgNO_3$ titriert.

Die Berechnung des extrazellulären Elektrolytgehaltes der Organe erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Extrazel. Elektr. Geh. in mmol/100 g F.G.} = \frac{\text{Serumkonz. mmol/l} \cdot \text{Donnan-Faktor} \cdot \text{EZF (\%)}}{1000}$$

Aus der Differenz der Gesamt- und extrazellulären Elektrolytanteile ergab sich der intrazelluläre Elektrolytgehalt. Wir geben ihn in mmol/100 g F.G. (Tabelle 3) und als intrazelluläre Konzentrationen in mmol/l (Tabelle 4) an.

4. Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit (EZF) der Organe.
Zur Bestimmung der EZF verwendeten wir Saccharose. Sie dringt unter Einhaltung der zeitlichen Voraussetzungen nicht in die Zelle ein, ist stoffwechselindifferent (62) und gehört zu den wenigen Substanzen, die die Bedingungen für eine gute EZF-Methode annähernd erfüllen (63).

Neuere Untersuchungen weisen allerdings darauf hin, daß Saccharose unter gewissen Bedingungen zur EZF-Bestimmung ungeeignet ist (61), da z.B. Cortison in hohen Dosen ein Eindringen von Saccharose in die Zelle zu begünstigen scheint. Die Verteilung von Saccharose im Organismus verläuft in zwei sich überschneidenden Exponentialphasen (62). Die schnelle Verteilungskomponente erfaßt Plasma und leicht diffusible interstitielle Flüssigkeit, die langsame Phase dagegen die schwerdiffusible interstitielle Flüssigkeit in Knochen und dichtem Bindegewebe.

In Vorversuchen an normalen männlichen Ratten klärten wir, in welcher Zeit die Verteilung einmalig intravenös injizierter Saccharose in Muskel und Leber beendet ist. Je zwei 250-300 g schwere männliche Ratten wurden 10', 30', 60', 2 Std., 3 Std. und 5 Stunden nach i.v. Injektion von 1.5 ml 14%iger Saccharoselösung getötet, danach Saccharose im Serum und im gefriergetrockneten Gewebe bestimmt. Dazu wurden in Anlehnung an die Methode von Wahler (63) 0.1 ml Serum oder 50 mg gefriergetrocknetes pulverisiertes Gewebe mit 0.75 n NaOH 10' lang gekocht, mit HCl neutralisiert und mit Zinksulfat enteiweißt.

Das Zentrifugat wurde mit einem Reagenz aus Resorcin und konzentrierter Salzsäure versetzt. Bei 78 °C wird die Saccharose durch die konzentrierte Salzsäure zu Fruktose und Glukose hydrolysiert und die Fruktose gleichzeitig in ein Oxymethylfurfurol überführt, welches mit Resorcin unter Wasseraustritt zu einem roten Triarylmethanfarbstoff kondensiert wird.
Der rote Farbstoff wurde im Eppendorf-Photometer bei Cd 509 nm gemessen, die Saccharosewerte aus einer Saccharoseeichkurve ermittelt.

Die EZF wurde nach folgender Formel berechnet (64):

$$EZF\ (\%) = \frac{S \cdot 100}{(S)}$$

S = Saccharosemenge in y/100 mg F. G. minus Leerwert in y/100 mg F. G.

(S) = Saccharosemenge in y/0. 1 ul Serum minus Leerwert in 0. 1 ul Serum.

F. G. = Frischgewicht.

Es ergab sich, daß die Verteilung der Saccharose in Muskel und Leber bereits nach fünfzehn Minuten beendet war und die EZF-Werte im Zeitraum von 15' bis 30' nach der Injektion konstant blieben.

Nach 30' zeigte sich ein Anstieg der errechneten EZF-Werte, der auf eine mangelhafte Rückdiffusion aus dem Interstitium zurückgeführt werden kann.

Mit einer zellulären Speicherung (62) ist in dieser Zeitspanne nicht zu rechnen.

Den vorliegenden Befunden entsprechend töteten wir die Tiere im Hauptversuch 15' nach einmaliger Injektion von 1. 5 ml 14%iger Saccharoselösung in die Schwanzvene und verwendeten die analysierten Serum- und Gewebe-Saccharosewerte zur Berechnung der EZF.

B_{II}. Ergebnisse in Tabellen.

Tabelle 1. Analysen der gefriergetrockneten Organe.

Tabelle 2. Meßwerte im Serum.

Tabelle 3. Berechnung des intrazellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes, bezogen auf 100 g F. G.

Tabelle 4. Berechnung der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und der Konzentrationsgradienten.

Tabelle 1. Analysen der gefriergetrockneten Organe.

Tiergruppe	Na mmol/kg Trocken-gewicht	K mmol/kg Trocken-gewicht	Cl mmol/kg Trocken-gewicht	EZF-% Frisch-gewicht	H_2O-% Frisch-gewicht
Leber					
Normale Tiere	97.0±1.8	284.3±6.2	86.9±2.9	19.2±1.0	68.5±0.4
Normale Tiere + Aldost.	93.3±2.3	261.6±1.6	88.5±3.0	19.3±0.7	68.2±0.3
Adrenal. Tiere	134.6±5.0	307.9±4.8	110.2±6.2	15.9±0.8	72.4±0.5
Adren. Tiere + Aldost.	117.9±4.3	295.1±6.3	107.8±1.4	17.0±0.5	71.1±0.6
Muskel					
Normale Tiere	95.2±3.2	369.3±4.1	51.7±0.9	9.4±0.6	73.4±0.2
Normale Tiere + Aldost.	92.1±3.8	329.6±2.6	51.7±0.8	11.1±0.5	73.6±0.2
Adrenal. Tiere	95.8±2.5	385.8±2.7	64.8±0.9	9.9±1.1	75.3±0.4
Adren. Tiere + Aldost.	94.3±1.8	343.6±4.5	58.9±0.4	11.9±0.4	73.2±0.4

Tabelle 2. Meßwerte im Serum.

Tiergruppe	Na mmol/l	K mmol/l	Cl mmol/l
Normale Tiere	152.5±0.9	7.1±0.1	97.9±0.2
Normale Tiere + Aldosteron	151.4±1.0	6.1±0.1	98.1±0.6
Adrenalektom. Tiere	136.3±2.6	10.4±0.3	97.7±1.5
Adrenal. Tiere + Aldosteron	151.7±2.0	8.9±0.2	97.8±0.7

Tabelle 3. Berechnung des intrazellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes, bezogen auf 100 g Frischgewicht.

Tiergruppe	Intrazellulärer Gehalt mmol/100 g F.G. Na	K	Cl	g H_2O/100 g F.G.
Leber				
Normale Tiere	0.27	8.84	0.77	49.3
Normale Tiere + Aldosteron	0.17	7.93	0.83	48.9
Adrenalektom. Tiere	1.67	8.29	1.41	56.5
Adrenal. Tiere + Aldosteron	0.97	8.48	1.37	54.1
Muskel				
Normale Tiere	1.19	9.78	0.41	64.0
Normale Tiere + Aldosteron	0.94	8.63	0.23	62.5
Adrenalektom. Tiere	1.08	9.43	0.58	65.4
Adrenal. Tiere + Aldosteron	0.81	9.09	0.34	61.3

Tabelle: 4 Berechnung der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und der Konzentrationsgradienten.

Tiergruppe	Intrazellul. Konz. mmol/l			Konzentrationsgrad. a=außen, i=innen		
	Na	K	Cl	Na $a/_i$	K $i/_a$	Cl $a/_i$
Leber						
Normale Tiere	5.50	179	15.6	26.8	26.6	6.6
Norm. Tiere + Aldost.	3.40	162	16.9	42.3	27.9	6.1
Adrenalekt. Tiere	29.6	146	25.0	4.4	14.8	4.1
Adren. Tiere + Aldost.	18.0	156	25.4	8.0	18.5	4.0
Muskel						
Normale Tiere	18.6	153	6.4	7.8	22.7	19.2
Norm. Tiere + Aldost.	15.1	139	3.7	9.5	23.9	27.8
Adrenalekt. Tiere	16.5	144	8.9	7.9	14.6	13.8
Adren. Tiere + Aldost.	13.2	148	5.5	10.9	17.5	22.4

C. LITERATUR.

1. Simpson, S. A., J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw und T. Reichstein Experientia (Basel) 9, 333 (1953)

2. Luetscher, J. A., R. Neher jr. and A. Wettstein Experientia (Basel) 10, 456 (1954)

3. Deming, Q. B. and J. A. Luetscher Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 73, 171 (1950)

4. Simpson, S. A., J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein Experientia (Basel) 10, 132 (1954)

5. Gross, F. Klin. Wschr. 929 (1956)

6. Schmidlin, J., G. Anner, J.-R. Billeter und A. Wettstein Experientia (Basel) 11, 365 (1955)

7. Wettstein, A. and G. Anner Experientia (Basel) 10, 397 (1954)

8. Hill, T. R. Nature 179, 567 (1957)

9. Llaurado, J. G. and J. L. Claus Experientia (Basel) 14, 217 (1958)

10. Gross, F. Schweiz. med. Wschr. 1, 1 (1959)

11. Labhardt, H., in "Klinik der inneren Sekretion", S. 275 Berlin: Springer-Verlag 1957

12. Bartter, F. C., G. W. Liddle, L. E. Duncan jr., J. K. Barber and L. Delea J. Clin. Invest. 35, 1306 (1956)

13. Fine, D., Meiselas, L. E. and T. Auerbach J. Clin. Invest. 37, 232 (1958)

14. Muller, A. F., Riondel, A. M., Mach, R. S. The Lancet I, 831 (1954)

15. Davis, O. J., B. Kliman, N. A. Yankopoulos and R. E. Peterson J. Clin. Invest. 37, 1783 (1958)

16. Duncan, L. E. jr., G. W. Liddle and F. C. Bartter J. Clin. Invest. 35, 1299 (1956)

17. Liddle, G.W., F.C. Bartter, L.E. Duncan jr., J.K. Barber and C. Delea J. Clin. Invest. 34, 949 (1955)

18. Falbriard, A., Muller, A.F., Neher, R. und Mach, R.S. Schweiz. med. Wschr. 85, 1218 (1955)

19. Gross, F. Klin. Wschr. 36, 693 (1958)

20. Newman, A.E. Endocrinology 62, 723 (1958)

21. Ross, E.J., McLean, E.K., G.R. Miller Nature 185, 540 (1960)

22. Liddle, G.W. Arch. Int. Med. 102, 998 (1958)

23. Ross, E.J., Bethune, J.E. The Lancet I, 127 (1959)

24. Krück, F. und R. Hild Klin. Wschr. 962 (1960)

25. Koczorek, Kh. R. Klin. Wschr. 826 (1960)

26. Moll, C.H. und G.W. Daugherty in "Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten", S. 949 Stuttgart: Thieme Verlag 1957

27. Buchborn, E., Koczorek, Kh. R. und H.P. Wolff Klin. Wschr. 71 (1959)

28. Wolff, H.P., Kh. R. Koczorek, E. Buchborn und M. Köhler Klin. Wschr. 1105 (1956)

29. Desaulles, P., Tripod, J. und W. Schuler Schweiz. med. Wschr. II, 1088 (1953)

30. Mach, R.S., Fabre, J., Duckert, A., Borth, R. et Ducommun Schweiz. med. Wschr. 84, 407 (1954)

31. Prunty, F.T.G., R.R. Mc. Swiney, I.H. Mills, M.A. Smith The Lancet II, 620 (1954)

32. Koczorek, Kh. R., J. Karl, G. Riecker, M. Eicke, H.P. Wolff Dtsch. med. Wschr. 1134 (1959)

33. Engel, P.E., A. Duckert et R.S. Mach Schweiz. med. Wschr. 88, 184 (1958)

34. Conn, J. W. J. Lab. A. Clin. Med. 45, 3 (1955)

35. Wolff, H. P., Koczorek, Kh. R. and E. Buchborn
Act. Endocrin. 27, 45 (1958)

36. Wolff, H. P., Koczorek, Kh. R., Buchborn, E.,
The Lancet 13, 63 (1957)

37. Wolff, H. P. und Kh. R. Koczorek
Dtsch. med. Wschr.
201-204, 250-252, 255-257 (1958)

38. Luetscher, J. A. jr. and R. H. Curtis
J. Clin. Invest. 34, 951 (1955)

39. Meinecke, G. H., J. M. Olsen und H. W. Bansi
Klin. Wschr. 539 (1958)

40. Herken, H., Senft G. und H. Wilutzky
Klin. Wschr. 781 (1956)

41. Labhardt, H. in "Klinik der inneren Sekretion", S. 289
Berlin: Springer-Verlag 1957

42. Llaurado, J. G. Klin. Wschr. 674 (1956)

43. Fisher, R. A. Statistische Methoden für die Wissenschaft S. 116 ff.
London: Oliver and Boyd 1956

44. Dulce, H. J., Th. Günther und E. Schütte
Clin. Chim. Acta 3, 423 (1958)

45. Krück, F. Klin. Wschr. 625 (1959)

46. McLean, J. P., M. C. Li, M. B. Lipsett, B. Ray and O. H. Pearson
J. Clin. Invest. 34, 951 (1955)

47. Labhardt, H. in "Klinik der inneren Sekretion",
S. 291 Berlin: Springer-Verlag 1957

48. Wilbrandt, W. J. Pharm. (London) 11, 65 (1959)

49. Woodbury, D. M. Fed. Proc. 10, 149 (1951)

50. Flückiger, E. und F. Verzár
Experientia (Basel) 10, 259 (1954)

51. Sulser, F. und H. A. Kunz zitiert nach Wilbrandt (48)

52. Friedman, S. M., C. L. Friedman, M. Nakashima
Am. J. Physiol. 621 (1958)

53. Friedman, S. M. and C. L. Friedman
Experientia (Basel) 453 (1958)

54. Schwiegk, H., Buchborn, E., Bock, K. O. in "Diurese und Diuretica", S. 81
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1959

55. Chalmers, T. M., M. G. Fitzgerald, A. H. James, H. Scarborough
The Lancet I, 127 (1956)

56. Conn, J. W. and L. H. Louis
Ann. Int. Med. 44, 1 (1956)

57. Dulce, H. J. und Th. Günther
unveröffentl. Untersuchungen aus dem Physiol. chem. Institut d. F. U. Berlin

58. Sanderson, P. H. Biochem. J. 52, 502 (1952)

59. Deane, N., G. E. Schreiner and J. S. Robertson
J. Clin. Invest. 12, 1463 (1951)

60. Mertz, D. P. Klin. Wschr. 887, (1960)

61. Kwee Wie Bing: unveröffentl. Unters. aus d. Physiol. chem. Institut d. F. U. Berlin

62. Cotlove, E. Am. J. Physiol. 176, 396 (1954)

63. Wahler, B. E. Z. physiol. Chem., Hoppe-Seylers' 306, 84 (1956)

64. Günther, Th., H. J. Dulce und E. Schütte
Clin. Chim. Acta 3, 368 (1958)

Ich danke Herrn Professor Dr. Dr. E. Schütte für das freundliche Überlassen des Themas meiner Arbeit und Herrn Privat-Dozenten Dr. H. -J. Dulce für anregende Diskussionen.

LEBENSLAUF

Am 17. 11. 1931 wurde ich, Gertraud Bonatz geb. Ziegler, als zweites Kind der Eheleute Richard und Elsbeth Ziegler in Dobrilugk N. -L. geboren.

Ich besuchte von 1938 - 42 die Volksschule in Doberlug, von 1942-44 die Mittelschule in Kirchhain, von 1944-45 die Oberschule in Doberlug-Kirchhain, an der ich am 13. 6. 1950 das Abitur bestand.

Bis 1952 war ich als Sprechstundenhilfe tätig, besuchte von 1952-53 die Medizinische Fachschule in Leipzig, an der ich 1953 das Staatsexamen für Medizinisch-technische Assistentinnen ablegte. Bis 1954 arbeitete ich als Lehrassistentin an dieser Schule.

Von 1954-60 studierte ich Medizin an der Freien Universität Berlin. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 5. 3. 1957, das medizinische Staatsexamen am 20. 9. 1960.

Seit dem 1. 10. 1960 bin ich als Medizinalassistentin im Physiologisch-chemischen Institut der Freien Universität Berlin tätig.

Photodruck der Photo Copie GmbH.